

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

T H È S E

N°

6 *u*

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Jean GAILLARD

Pharmacien

né le 8 Avril 1938 à St Amant des Cots - Aveyron -

Présentée et soutenue publiquement au mois de Juillet 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE

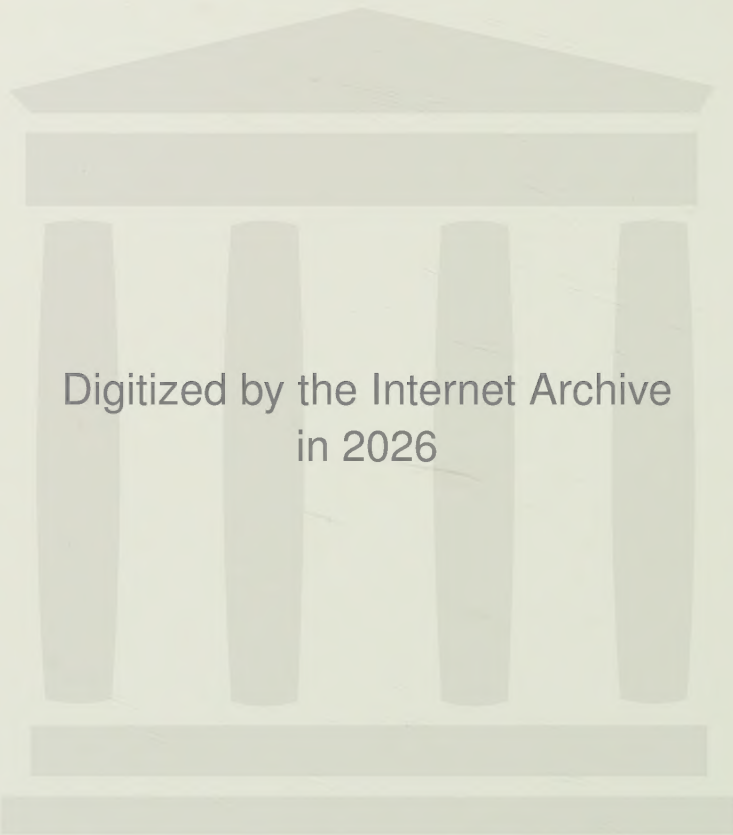
TOXICOLOGIQUE-PHARMACOLOGIQUE

DU C 157 A (CHIBRO-PLAST)

Président : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur
M. CLUZEL, Professeur

CLERMONT-REPRODUCTION, 64, Avenue Jean Noellet - 63 - AUBIERE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546615_0055

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N°

T H È S E

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)
par

Jean GAILLARD

Pharmacien

né le 8 Avril 1938 à St Amant des Cots - Aveyron -

Présentée et soutenue publiquement au mois de Juillet 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE

TOXICOLOGIQUE-PHARMACOLOGIQUE

DU C 157 A (CHIBRO-PLAST)

Président : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur
M. CLUZEL, Professeur



UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
GAUTHIER, POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLot	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeur Titulaire à titre personnel.

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
MENUT	- Pédiatrie et Puériculture.

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M. BOSSY	- Anatomie
Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orhtopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phtisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maîtres de Conférences.

MM. JARREAU	- Matière médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : —

A ma Femme

sans la confiance inaltérable et la profonde
tendresse de qui cet ouvrage ne serait pas.

A mes Grands-Parents

A mes Parents

A ma Soeur

A mon Beau-Père

en témoignage de mon affection et
de ma vive reconnaissance.

A ma Famille

A mes Amis.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TRONCHE

Professeur de Pharmacie Chimique
Diplômé d'E.S. d'Ophtalmologie
Chevalier des Palmes Académiques

En témoignage de respectueuse gratitude pour
tous les conseils qu'il nous a prodigués et la
part qu'il a prise dans la direction de ce tra-
vail.

Monsieur le Professeur CLUZEL

Professeur de Bactériologie

Après avoir participé à ces recherches, il
nous a fait l'honneur de juger cette thèse. Que
sa bienveillance à notre égard trouve ici le té-
moignage de notre profonde reconnaissance.

A TOUS NOS MAITRES et PROFESSEURS

Témoignage respectueux de profonde
gratitude.

A Messieurs Jean et René CHIBRET

En témoignage de notre respectueuse
gratitude.

A Madame MAURY

mon Maître de Stage.

INTRODUCTION

Le clinicien a toujours désiré la présentation d'un mélange topique, anesthésique, antiseptique et adoucissant pour l'utilisation en petite chirurgie, gynécologie, médecine traumatique.

Le C 157 A répond pleinement à ces exigences puisqu'il représente l'association dans un appareil nébuliseur couramment désigné sous le terme de " bombe aérosol ",

- d'un anesthésique local, l'éthoforme,
- d'un agent mouillant ammonium quaternaire, antiseptique, le chlorure de benzethonium,
- de deux bactéricides et fongicides, le benzoate de 8-hydroxyquinoléine et le parahydroxybenzoate de méthyle,
- d'un adjuvant antiprurigineux, le menthol,
- de deux topiques adoucissants, les huiles de ricin et de soja,

selon la formule suivante :

Chlorure de benzethonium	0,1 g.	
Ethoforme	4,5 g.	
Benzoate de 8-hydroxyquinoléine	1,2 g.	Concentration
Menthol	0,5 g.	de
Parahydroxybenzoate de méthyle	2 g.	C 157 A
Isopropanol	1,6 g.	36,59 %
Huile de ricin	50 g.	
Huile de soja	100 g.	
Trichlorofluorométhane (Forane 11)	40 g.	Mélange pulseur
Dichlorodifluorométhane (Forane 12)	60 g.	63,41 %

Les propriétés toxicologiques, pharmacologiques et cliniques du C 157 A ont été décrites par nos Maîtres Messieurs les Professeurs BASTIDE, CLUZEL et TRONCHE (4) et nous les remercions de nous avoir associé à cette étude.

Notre travail sera donc divisé en deux parties :

- l'une bibliographique, l'autre expérimentale (toxicologique d'une part, pharmacologique d'autre part), suivies d'une conclusion générale.

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

Le Chlorure de Benzethonium est un ammonium quaternaire doué de propriétés mouillantes et légèrement détergentes.

C'est un " agent bactéricide et bactériostatique actif envers la plupart des germes Gram positif et Gram négatif.

Il possède également une activité antifongique à l'égard de nombreux champignons ".

C'est une drogue bien tolérée par la peau, ne développant pas de phénomène de sensibilisation, ne modifiant pas les humeurs, les tissus de l'organisme et la croissance des animaux d'expérience après un an d'administration journalière, ainsi qu'il ressort de l'étude pharmacologique de FINNEGAN et coll.(14).

Selon ces auteurs, le DL 50 chez le Rat est en mg./kg. :

- 420 $\pm$ 25 mg. par voie orale
- 33,1 $\pm$ 2,5 mg. par voie intrapéritonéale
- 19,1 $\pm$ 0,8 mg. par voie intraveineuse.

Le chlorure de benzethonium entre dans la composition de plusieurs spécialités pharmaceutiques.

L' Ethoforme ou para-aminobenzoate d'éthyle ou benzocaïne, est un " anesthésique local presque dépourvu de toxicité.

On l'emploie en cachets et pastilles, aux doses de 0,30 à 1 g. par 24 heures contre les hyperesthésies stomacales de certains états nerveux ou de l'ulcère rond et contre les vomissements de la grossesse.

Pour l'usage externe on l'emploie en poudre pour insufflations locales, en pommade à 5 ou 10 %, en suppositoires contenant de 10 à 20 ctg., en inhalations pratiquées avec des solutions huileuses contenant 2 d'anesthésique et 1 de menthol pour 100 d'huile d'olive ". DORVAULT (11).

Il détermine :

- une analgésie rapide et durable agissant sur les terminaisons et les troncs nerveux,
- une action antiprurigineuse,
- une action protectrice vis-à-vis des rayons ultra-violets qu'il filtre 4 fois plus que ne le fait le salicylate de phénol. MAMMERLUND (20).

Certains auteurs ont signalé la fréquence des sensibilisations observées avec les anesthésiques locaux du type " caïne ".

Dans un article intitulé " Toxicité des anesthésiques locaux " - ADRIANI (1), l'auteur montre que les propriétés allergisantes " peuvent survenir avec presque toutes sortes de drogues et ne sont pas particulières aux anesthésiques locaux ou à ceux des anesthésiques locaux dont les noms se terminent en " caïne ".

Dans une étude sur l'absorption cutanée des anesthésiques locaux, CAMPBELL et ADRIANI (9) montrent qu'ils ne sont pas absorbés par la peau normale, mais pénètrent par la peau lésée.

Ils observent le passage maximum de l'éthoforme (benzocaïne) après 6 à 10 minutes d'application sous forme de pommade dans un support hydrosoluble, sur la peau de l'abdomen fraîchement abrasée. Après application de pommade à l'éthoforme sur la peau brûlée, ils ne décèlent aucun taux sanguin mesurable d'anesthésique avec les brûlures du premier ou du second degré.

Si les vésicules demeurent intactes et qu'il n'y ait pas de plaie, il n'est pas obtenu de taux sanguin détectable même après brûlure au 3ème degré.

Les applications étaient effectuées immédiatement et 4 à 6 heures après la brûlure.

Après rupture des vésicules et installation de plaies les taux sanguins d'anesthésiques devenaient mesurables.

Plus récemment, dans une étude sur le pouvoir anesthésique et l'inocuité comparée des anesthésiques locaux chez l'homme, ADRIANI cite en bonne place l'éthoforme (2, 3).

Le Benzoate de 8-hydroxyquinoléine est un " antiseptique " très largement utilisé depuis de nombreuses années, comme le sont plusieurs dérivés de la 8-hydroxyquinoléine.

" Il est particulièrement actif contre Staph. aureus " et agirait par action chélatrice.

Selon l'index MERCK, la DL 20 chez le Cobaye, par voie orale serait de 1,20 g./kg. pour la 8-hydroxyquinoléine. Le Lapin tolérerait 3,70 g./kg. et par jour.

Le produit est généralement bien toléré. Il faut signaler toutefois que certaines réactions eczémateuses ont été observées chez des sujets hypersensibles, testés avec certains dérivés halogénés d'oxyquinoléine - MUNZIKER (23); mais ces cas sont rares.

Le Parahydroxybenzoate de méthyle, méthylparaben, nipagine, est un conservateur très utilisé dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire - DORVAULT (11).

Son action inhibitrice s'étend des germes bactériens aux moisissures et aux fermentations. Il est particulièrement actif contre les moniliases.

Nous renverrons, pour son étude pharmacologique, à l'article de BIJLSMA (7).

Il faut cependant signaler que ce composé, inscrit à diverses pharmacopées (Suisse 1949, p. 650), est tellement largement utilisé, qu'il a pu parfois causer des dermites chez les sujets hypersensibles - SARKANY (29).

Le Menthol, l'Isopropanol, les Huiles de Ricin et de Soja, sont des composés trop connus en Pharmacie chimique et galénique pour que nous fassions un rappel à leur sujet.

Le Menthol a une action antiprurigineuse et rafraîchissante selon l'Index MERCK. Sa dose léthale par voie sous-cutanée chez le Rat serait de 2 g./kg.

Les huiles de ricin et de soja développent des effets émollients pour les tissus qui gardent leur souplesse et maintiennent les anesthésiques et les antiseptiques dans l'aire d'application du fait de leur lente diffusion.

Les Hydrocarbures Chloro-Fluores (C.F.C.)

Fréons, Fiugènes, Frigen, Eoranes sont des pulseurs très utilisés pour les produits pharmaceutiques, cosmétiques ou ménagers.

Nous rappellerons les importantes recherches que QUEVAUVILLER et son Ecole leur ont consacrées et où l'on trouvera la bibliographie de la question. (24, 26).

Nous avons tenu compte de leurs conclusions au cours de notre expérimentation.

Il est à noter que les mélanges C.F.C. 11 + 12, sont parmi les moins réactifs, comparés aux C.F.C. 22 et 114 par exemple qui sont, eux, inscrits au Tableau des Substances Vénéneuses.

Il a été retenu également l'importance de la distance de pulvérisation qui, lorsqu'elle est réduite à 10 centimètres et maintenue pendant un temps prolongé (5 secondes), peut, " en raison de l'action réfrigérante marquée " présenter un retard de la vitesse de cicatrisation des plaies et des brûlures.

Pour certains, du reste, " la toxicité est pratiquement nulle. Toutefois des substances toxiques peuvent se former au contact avec une flamme ou avec une surface métallique surchauffée ".

RECHERCHES EXPERIMENTALES

A - ETUDE TOXICOLOGIQUE

B - ETUDE PHARMACOLOGIQUE.

A - ETUDE TOXICOLOGIQUE

L'étude toxicologique du C 157 A a porté sur le concentrat huileux de C 157 A et sur la préparation de C 157 A en flacon nébuliseur.

Ceci a été nécessité par le fait que, vu la faible toxicité et la présentation en flacon nébuliseur, il ne pouvait être obtenu de mort d'animal avec la présentation normale et la voie normale d'utilisation.

Il a donc été effectué :

- Une détermination de la DL 50, selon KARBER et BEHRENS par voie intrapéritonéale chez la Souris, avec le concentrat huileux,

- Une détermination de la DL 50, selon KARBER et BEHRENS par voie sous-cutanée chez la Souris, avec le concentrat huileux,

- Une détermination de la DL 50, selon KARBER et BEHRENS par voie intrapéritonéale chez le Rat, avec le concentrat huileux,

- L'étude de la toxicité à terme chez le Lapin pendant trois mois selon la méthode de DRAIZE de la Food and Drug Administration avec le concentrat huileux et la présentation en flacon nébuliseur,

- L'étude de la tolérance et de l'action allergisante chez le Cobaye albinos selon la méthode de DRAIZE de la F.D.A. avec la présentation en flacon nébuliseur,

- L'étude de la tolérance lors de la cicatrisation des plaies et des brûlures, avec la présentation en flacon nébuliseur (voir étude pharmacologique).

- L'étude de la tolérance locale sur l'œil de Lapin selon REGNIER avec le concentrat huileux,

- L'étude de la tolérance locale sur l'oreille de Lapin selon HAZARD et coll. avec le concentrat huileux,

- L'étude de l'action sur l'activité ciliaire (d'après CHEVANCE).

I - DETERMINATION SUR LA DOSE LETHALE 50 DU C 157 A PAR VOIE INTRAPERITONEALE SUR LA SOURIS.

GENERALITES .

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBET et BEHRENS (16, 5, 6).

ESSAIS PRELIMINAIRES .

Nous avons procédé à deux essais préliminaires pour déterminer la zone de l'essai définitif qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

1er essai :

a) Mode opératoire.

Nous avons opéré sur trois lots de cinq souris albinos " Swiss ", de 18-20 g. provenant du même élevage et soumises à un régime préalable identique (Provende extra-labo et eau fraîche à volonté). Le C 157 A est injecté par voie intrapéritonéale sous forme de concentrat huileux.

b) Résultats :

Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (tableau n° 1) les doses utilisées ne permettant qu'une première approximation de l'intervalle recherché, il a été procédé à un deuxième essai avec, pour raison de la progression géométrique des doses, le chiffre 2 (au lieu de 4).

2ème essai :

a) Mode opératoire.

Cet essai est pratiqué comme le précédent mais sur 5 lots de 6 souris provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique. Les doses administrées par voie intrapéritonéale sont en progression géométrique de raison 2. Pour un meilleur étalement elles sont réalisées avec le concentrat de C 157 A dilué au demi.

TABLEAU N° I -

C 157 A
 DL 50 SUR SOURIS
PAR VOIE INTRAPERITONEALE.

Ier ESSAI PRELIMINAIRE			
Raison 4 - Concentrat total - Doses en ml/I. Souris 20 g.			
Doses (en ml. de concentrat de C 157 A par 20 g. de poids corporel)	0,1	0,4	1,6
Nombre d'animaux	5	5	5
Nombre de morts en 24 heures	1/5	5/5	5/5
Nombre de morts en 48 heures	1/5	5/5	5/5
Nombre total de morts	1/5	5/5	5/5

b) Résultats.

On peut déduire qu'avec le concentrat de C 157 A dilué au demi, la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est 0,2 ml./20 g. et que la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 0,8 ml./20g.

Les deux doses délimitent la zone dans laquelle on effectuera l'essai définitif.

Essai définitif :

a) Mode opératoire.

Cet essai est pratiqué comme les précédents sur des souris albinos de 18-20 g. (mâles et femelles), provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intrapéritonéale sont en progression géométrique de raison 1,2. Pour un meilleur étalement, ces doses sont réalisées à l'aide du concentrat huileux de C 157 A, dilué au demi dans le solvant huileux de la préparation.

La mortalité a été notée au bout de 24 heures et de 48 heures.

b) Résultats.

Ils figurent dans le tableau ci-joint (tableau 2).

c) Conclusion.

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBET et BEHRENS, explicitée dans ce tableau 2 donne :

DL 50 I.P. sur souris = 9,08 ml./kg.
(de C 157 A concentrat huileux)

TABLEAU N° 2 -

C 157 A
DL 50 SUR SOURIS
PAR VOIE INTRAPERITONEALE

ESSAIS DEFINITIFS (sur concentrat dilué au demi)							
DOSES (en ml. de concentrat de C 157 A dilué au demi par 20g. de poids corporel).	0, 2	0, 24	0, 29	0, 35	0, 42	0, 50	0, 60 = Df
Nombre d'animaux = n	30	30	30	30	30	30	30
Nombre de morts en 24 heures	0/30	2/30	4/30	15/30	12/30	20/30	30/30
Nombre de morts en 48 heures	0/30	8/30	12/30	18/30	19/30	22/30	30/30
Nombre total de morts	0/30	8/30	12/30	18/30	19/30	22/30	30/30

TABLEAU N° 2 (suite).

(calcul de la DL 50)

$$\begin{array}{lcl}
 \text{a - SOMME DES MORTS DE} \\
 \text{DEUX LOTS CONSECUTIFS} & = & \frac{0 + 8}{2} = 4 \quad \frac{18 + 19}{2} = 18,5 \\
 & & \frac{8 + 12}{2} = 10 \quad \frac{19 + 22}{2} = 20,5 \\
 & & \frac{12 + 18}{2} = 15 \quad \frac{22 + 30}{2} = 26
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{b - DIFFERENCE ENTRE DEUX} \\
 \text{DOSES CONSECUTIVES} & = & 0,24 - 0,20 = 0,04 \\
 & & 0,29 - 0,24 = 0,05 \\
 & & 0,35 - 0,29 = 0,06 \\
 & & 0,42 - 0,35 = 0,07 \\
 & & 0,50 - 0,42 = 0,08 \\
 & & 0,60 - 0,50 = 0,10
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{a x b} = & & 4 \quad \times 0,04 = 0,16 \\
 & & 10 \quad \times 0,05 = 0,50 \\
 & & 15 \quad \times 0,06 = 0,90 \\
 & & 18,5 \times 0,07 = 1,29 \\
 & & 20,5 \times 0,08 = 1,64 \\
 & & 26 \quad \times 0,10 = 2,60
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{DL 50} = \text{Df} - \frac{\Sigma (\text{a} \times \text{b})}{\text{n}} & \text{DL 50 (en concentrat dilué} \\
 & \text{au demi)} = \\
 & (0,60 - \frac{7,095}{30}) = 0,3635 \text{ ml./20 g.} \\
 \text{soit :} & & 18,17 \text{ ml./kg.}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{DL 50 I.P. POUR LA SOURIS EN CONCENTRAT DE C 157 A} = \\
 \underline{9,08 \text{ ml./kg.}}
 \end{array}$$

II - DETERMINATION DE LA DOSE LETHALE 50 DU C 157 A PAR VOIE SOUS-CUTANEE SUR LA SOURIS.

GENERALITES.

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (16, 5, 6).

ESSAIS PRELIMINAIRES.

Nous avons procédé à deux essais préliminaires pour déterminer la zone de l'essai définitif, qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

1er essai :

a) Mode opératoire.

Nous avons opéré sur trois lots de 5 souris albinos " Swiss " de 18-20 g., provenant du même élevage et soumises à un régime préalable identique (Provende extra-labo et eau fraîche à volonté). Le C 157 A est injecté par voie sous-cutanée sous forme de concentrat huileux.

b) Résultats :

Les doses utilisées ne permettant qu'une première approximation de l'intervalle recherché, il a été procédé à un 2ème essai, avec, pour raison de la progression géométrique des doses, le chiffre 2 (au lieu de 4).

2ème essai :

a) Mode opératoire.

Cet essai est pratiqué comme le précédent mais sur 5 lots de 6 souris albinos " Swiss " de 18-20 g., provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique. Les doses administrées par voie sous-cutanée sont en progression géométrique de raison 2.

b) Résultats.

On peut déduire que la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est 0,2 ml./20 g. et que la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 1,6 ml.

Ces doses délimitent la zone dans laquelle on effectuera l'essai définitif.

Essai définitif :

a) Mode opératoire.

Cet essai est pratiqué comme les précédents sur des souris albinos " Swiss " de 18-20 g. (mâles et femelles), provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie sous-cutanée sont en progression géométrique de raison 1,5. Pour un meilleur étalement, ces doses sont réalisées à l'aide du concentrat huileux de C 157 A dilué au demi dans le solvant huileux de la préparation.

La mortalité a été notée au bout de 24 heures et de 48 heures.

b) Résultats.

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBET et BEHRENS donne :

DL 50 S.C. sur Souris = 15,8 ml./kg.
(de C 157 A concentrat huileux)

III - DETERMINATION DE LA DOSE LETHALE 50 DU C 157 A PAR VOIE INTRAPERITONEALE SUR LE RAT.

GENERALITES.

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBET et BEHRENS (16, 5, 6).

ESSAI PRELIMINAIRE.

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone de l'essai définitif qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

a) Mode opératoire.

Nous avons opéré sur 5 lots de 6 Rats " Wistar " albinos de 200-220 g., provenant du même élevage et soumis à un régime préalable identique (Provende extra-labo et eau fraîche à volonté).

Le C 157 A est injecté par voie intrapéritonéale sous forme de concentrat huileux. Les doses sont en progression géométrique de raison 1,5.

b) Résultats.

La plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est 0,73 ml./200 g. et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 5,69 ml./200 g.

ESSAI DEFINITIF.

a) Mode opératoire.

Cet essai est pratiqué comme le précédent sur des Rats " Wistar " de 200-220 g., provenant d'un même élevage et soumis à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intrapéritonéale sont en progression géométrique de raison 1,25.

La mortalité est notée au bout de 24 heures et de 48 heures.

b) Résultats.

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBER et BEHRENS donne :

DL 50 I.P. sur Rat : 10,87 ml./kg.
(de C 157 A concentrat huileux).

IV - TOXICITE A TERME DU C 157 A CHEZ LE LAPIN. (ESSAI SUR 90 JOURS)

GENERALITES.

La toxicité à terme du C 157 A a été recherchée en s'inspirant de la méthode mise au point par le Docteur DRAIZE de la Food and Drug Administration (12), et selon les recommandations données aux Experts en " fonction de la voie d'administration et de l'application thérapeutique prévue ".

TECHNIQUE.

1 - Conditions générales.

Des Lapins Fauves de Bourgogne de 2 kg environ sont épilés sur les deux flancs sur une surface de 15 à 20 cm². Une série de légères érosions a été pratiquée au vaccinostyle après désinfection au moyen d'un tampon d'éther.

Six jours sur sept durant une période de 90 jours, le produit à tester est appliqué.

Pendant toute la durée de l'expérimentation, les animaux sont soumis à un régime alimentaire normal.

La surface épidermique testée est examinée chaque jour avant la nouvelle application du produit.

2 - Conditions particulières.

- Un lot témoin (3 lapins) ne reçoit aucune application.
- Un lot d'essai (3 lapins) reçoit le C 157 A sous forme d'application au pinceau, effectuées avec le concentrat huileux.
- Un lot d'essai (3 lapins) reçoit le C 157 A sous forme de pulvérisations effectuées à 25 cm. de distance durant 4 secondes.

Les applications sont effectuées six jours sur 7.

En fin d'expérience, chaque animal traité a reçu en applications plus de 100 ml. de produit à tester.

Il a été établi :

- a) - l'examen quotidien des animaux
- b) - la courbe de croissance d'après la pesée tous les 5 jours de chaque animal.
- c) - sur les animaux examinés après 90 jours de traitement:
 - les recherches hématologiques - numération des hématies et leucocytes - formule leucocytaire,
 - l'examen macroscopique et histologique des principaux organes et de la peau en particulier.
- d) - sur des animaux non sacrifiés après 90 jours de traitement :
 - une observation de leur comportement durant un mois.

RESULTATS.

1 - Examen quotidien des animaux.

L'application du C 157 A a été bien tolérée, tant sous forme de concentrat huileux que sous forme de pulvérisations avec la bombe aérosol ". (tableau 3).

2 - Courbe de croissance.

L'administration du C 157 A n'a pas entravé l'allure générale de la croissance des lapins, tant avec le concentrat huileux qu'avec la " bombe aérosol " (tableau 3).

N.B. - Les animaux K3 et J9, atteints de coccidiose, ont été sacrifiés.

3 - Examens pratiqués sur les animaux après 90 jours de traitement.

a) Examens hématologiques.

Après 90 jours de traitement, le sang des animaux traités et témoins a été prélevé à l'oreille de chaque lapin à l'aide

TOXICITE A TERME DU C 157 A CHEZ LE LAPIN

TABLEAU 3 -

(Courbe des poids exprimés en kg.)

ANIMAUX	TEMOINS				C 157 A CONCENTRAT				C 157 A BOMBE			
	K 3 mâle	K 5 mâle	L 1 fem.	Moy.	J 5 fem.	J 9 fem.	K 1 mâle	Moy.	I 7 fem.	J 7 fem.	K 7 mâle	Moy.
<u>JOURS</u>												
- 10	1,900	2,350	2,400	2,210	2,200	1,900	2,150	2,080	1,900	2,200	2	2
- 5	2	2,400	2,500	2,300	2,200	1,900	2,200	2,100	2	2,200	2	2
0 juste avant traitement	2	2,500	2,550	2,350	2,250	2	2,300	2,180	2	2,200	2	2
+ 5	2,100	2,600	2,700	2,500	2,400	2,150	2,550	2,400	2,300	2,300	2,100	2,230
+ 10	2,150	2,750	2,850	2,580	2,500	2,350	2,700	2,500	2,450	2,500	2,350	2,430
+ 15	2	2,750	2,900	2,550	2,800	2,400	3	2,730	2,500	2,500	2,400	2,500
+ 20		2,800	3	2,900	2,400	2,200	2,500	2,400	2,800	2,200	2,800	2,600
+ 25		3	2,700	2,850	3	2,900	3,300	3,100	3,300	3	3,150	3,150
+ 30		2,800	2,800	2,800	2,600	2,500	3	2,700	2,800	2,700	2,800	2,800
+ 35		2,900	3,100	3	2,900	2,900	3,400	3,100	3,350	3,100	3,200	3,220
+ 40		2,900	3,400	3,100	3,100	2,600	3,500	3,100	3,500	3,200	3,350	3,350
+ 45		3,200	3,700	3,450	2,750		3,500	3,130	3,300	3,100	2,800	3,100
+ 50		3,150	3,700	3,420	3,100		3,500	3,300	3,500	3,150	3,300	3,320
+ 55		3,200	3,700	3,450	3,100		3,600	3,300	3,500	3,150	3,350	3,330
+ 60		3,400	4	3,700	3,400		3,900	3,650	3,600	3,500	3,600	3,600
+ 65		3,400	4	3,700	3,350		4	3,680	3,650	3,500	3,600	3,580
+ 70		3,400	4,100	3,750	3,400		4,200	3,800	3,800	3,650	3,750	3,730
+ 75		3,500	4,100	3,800	3,500		4,300	3,900	3,800	3,700	3,800	3,800
+ 80		3,500	4,100	3,800	3,550		4,300	3,920	3,800	3,800	3,800	3,800
+ 85		3,550	4,200	3,880	3,550		4,250	3,900	3,850	3,750	3,800	3,800
+ 90		3,500	4,200	3,900	3,600		4,300	3,950	3,850	3,800	3,850	3,850

d'un vaccinostyle, en vue de l'établissement de la numération globulaire et de la formule leucocytaire (effectuée selon les méthodes classiques :-dilution des hématies au 1/200e avec le liquide de MARCANO

-dilution des leucocytes au 1/20e avec le liquide de HAYEM

-numération à la cellule de MALASSEZ

-examen des frottis sanguins après coloration selon MAY GRUNWALD GIEMSA, pour la formule leucocytaire).

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-joint (tableau 4).

TABLEAU 4 -

Animaux	Numération globulaire		Formule leucocytaire				
	Hématies par mm ³	Leucocytes par mm ³	Polynucléaire %			Lympho- cytes %	Mono- cytes %
			neutro- philes	eosino- philes	baso- philes		
Témoins							
- K5	4.000.000	4.800	47	1	3	42	7
- L1	4.100.000	4.600	55	1	2	36	5
Traités							
- I7	5.400.000	4.000	47	1	1	43	8
- J5	5.500.000	5.000	20	-	1	69	10
- J7	5.300.000	5.600	36	-	2	51	11
- K1	3.800.000	4.600	46	2	2	45	5

Compte tenu des variations physiologiques assez grandes constatées chez les lapins - J. DUMAS (13), l'examen des résultats ci-dessus, ne montre pas de différences significatives, tant pour la numération globulaire que pour la formule leucocytaire entre les animaux traités et les animaux témoins.

b) Examens anatomo-pathologiques.

Les prélèvements ont été effectués sur peau, rein, foie et rate. Les tissus ont été fixés au Bouin et au Formol neutre pendant 48 heures, déshydratés par les alcools et inclus en

paraffine. Les coupes de 5 à 7 millimicrons ont été colorées par Glychémalum-Eosine pour foie, rein, rate et par le Trichrome de Ramon y Cajal pour la peau.

- Peau :

Au niveau des zones où la peau avait été lésée par scarification, l'examen histologique des coupes montre :

- chez les témoins : un épiderme régénéré quoique peu épais à certains endroits, un derme normal avec de nombreux follicules pileux.
- chez les traités : tant après traitement avec le concentrat huileux de C 157 A qu'avec le nébuliseur de C 157 A, l'épiderme est normal, légèrement plus épais dans les zones d'application de C 157 A concentrat huileux. Le derme est normal avec de très nombreux follicules pileux.

Au niveau des zones où la peau n'avait pas été lésée par scarifications, l'examen histologique des coupes montre dans tous les cas, un épiderme normal et un derme normal.

- Rein : Aspect histologique normal.

- Foie : Aspect histologique normal.

- Rate : Aspect histologique normal.

En aucun cas nous n'avons trouvé d'anomalies dans les tissus examinés, tant au niveau de l'organisation générale des tissus qu'au niveau des cellules.

4 - Animaux mis en observation durant un mois après 90 jours de traitement.

Rien à signaler.

CONCLUSIONS.

Après administration de C 157 A durant 90 jours chez des lapins des deux sexes, tant sous forme de concentrat huileux que sous forme de " bombe aérosol ", il a été décelé :

- Une tolérance locale convenable,
- Une croissance normale des animaux traités, analogue à celle des témoins,
- Sur les animaux sacrifiés après 90 jours de traitement :
 - analogie des résultats des examens hématologiques des animaux traités.
 - absence de lésion anatomo-pathologique.
- sur les animaux mis en observation durant un mois après 90 jours de traitement : comportement identique pour essai et témoin.

Cette expérimentation donne donc des résultats satisfaisants.

V - TEST DE SENSIBILISATION CHEZ LE COBAYE.

GENERALITES.

La détermination du pouvoir allergique du C 157 A a été effectué d'après la méthode du Docteur DRAIZE de la Food and Drug Administration (12).

TECHNIQUE.

On opère sur un lot de cobayes mâles albinos de 500 à 850 g. soumis à une nourriture chargée en acide ascorbique ou additionnée de salade verte.

1 - Opération sensibilisante.

Chaque jour pendant 10 jours, une touffe de poils est arrachée par épilage à la pince à chaque cobaye au niveau du dos ou sur les parois latérales de l'abdomen, sur environ un à deux centimètres carrés.

Chaque surface d'épiderme ainsi mise à nu reçoit une application quotidienne de substance à tester.

Après 10 applications sensibilisantes diversement localisées et examen quotidien de chaque plage, les animaux sont laissés au repos pendant 14 jours.

2 - Opération déclenchante.

Après les 10 jours de traitement sensibilisant, suivis de deux semaines de repos, il est pratiqué une application après arrachage d'une touffe de poils à la face interne de la cuisse. C'est l'application déclenchante de vérification.

RESULTATS.

Les essais ont été effectués sur 6 animaux soumis à un régime standard (Provende extra-labo et eau fraîche contenant 20 mg. d'acide ascorbique par litre - à volonté).

Les applications de C 157 A sont réalisées avec le flacon nébuliseur, à une distance de 20 cm.

Durant l'opération sensibilisante sur chaque plage traités au C 157 A, il a été recherché chaque jour :

- le degré d'irritation
- la présence d'un érythème
- la formation d'œdème
- la trace de brûlures

Tous ces essais se sont révélés pratiquement négatifs. On peut cependant signaler parfois une très légère irritation, 24, 48 ou 72 heures après l'application.

Lors de l'opération déclenchante, après les 10 jours de traitement sensibilisant, suivis de 14 jours de repos, il n'a été observé, 1 heure et 24 heures après l'application, ni irritation, ni érythème, ni œdème, ni brûlure, ni aucune trace de réaction allergique.

La même observation a été faite aux emplacements ayant fait l'objet des applications sensibilisantes.

Durant le mois suivant cette opération déclenchante, aucun phénomène particulier n'est à signaler.

CONCLUSIONS.

Le C 157 A s'est avéré dénué de pouvoir allergique sur le cobaye albinos après une série de 10 applications sensibilisantes et une application déclenchante pratiquée deux semaines après les premières.

VI - ESSAIS DE TOLERANCE DU C 157 A LORS DE LA CICATRISATION DES PLAIES ET DES BRULURES.

GENERALITES.

Lors de l'examen de l'activité du C 157 A sur la cicatrisation des plaies chez le cobaye et des brûlures chez le rat, selon les techniques de HEITE et de QUEVAUVILLER (15, 24), nous avons pu observer l'effet du C 157 A sur les muqueuses lésées.

TECHNIQUE.

Nous renvoyons au chapitre de Pharmacologie spéciale consacré à ce test.

RESULTATS ET CONCLUSIONS.

Chez tous les animaux expérimentés ayant reçu quotidiennement une application de C 157 A la tolérance a été excellente.

VII - ESSAI DE TOLERANCE DU C 157 A SUR L'OEIL DE LAPIN.

GENERALITES.

Lors de l'étude de l'activité anesthésique locale de surface du concentrat huileux de C 157 A sur l'œil de lapin, selon la méthode de REGNIER (27) dont les résultats sont rapportés plus loin ; nous avons pu observer l'effet du C 157 A sur une région particulièrement sensible bien que le C 157 A ne soit pas destiné à être appliqué sur la région oculaire.

TECHNIQUE.

Nous renvoyons pour tous les détails techniques et expérimentaux au chapitre consacré au test de REGNIER.

RESULTATS.

Sur les 14 lapins utilisés lors d'essais croisés le C 157 A a été appliqué sous forme de concentrat huileux non dilué et de concentrat huileux dilué au demi.

Un seul animal a présenté un léger œdème palpébral et une hyperhémie après instillation, suivie de larmolement, et ceci sur un œil seulement.

Dans tous les autres cas, une très légère hyperhémie a pu être observée, ce qui ne saurait surprendre avec un soluté huileux à base de menthol.

CONCLUSIONS.

Le C 157 A sous forme de concentrat huileux a été instillé, lors du test de REGNIER sur l'œil de lapin et, seule une légère hyperhémie a été observée dans des conditions particulièrement anormales d'utilisation.

VIII - TOLERANCE LOCALE DU C 157 A SUR L'OREILLE DE LAPIN.

GENERALITES.

La tolérance locale du C 157 A a été recherchée sur l'oreille de lapin, d'après le protocole établi par HAZARD et QUEVAUVILLER (Commission des essais de médicaments, protocole d'essais pharmacodynamiques d'un anesthésique local).

TECHNIQUE.

" Aussitôt après avoir administré à deux lapins, par voie intraveineuse, 1 ml/kg. d'une solution à 1 % de bleu Trypan purifié, on injecte sous la peau de la face interne de la conque

de l'oreille 0,1 ml. de produit à tester.....

En cas d'hyperhémie par irritation, le colorant diffuse des capillaires sanguins et vient tacher la peau en bleu."

L'examen est pratiqué durant 24 heures.

RESULTATS.

Nous avons opéré sur un lapin albinos et un Fauve de Bourgogne de poids respectifs : 2,700 et 2,800 kg., en bonne santé, et maintenus en conditions de vie normale.

Sur chaque oreille, il a été pratiqué à 3 cm. de distance, l'injection sous-cutanée de 0,10 ml. de C 157 A (concentrat huileux) et de 0,10 ml. du solvant huileux de C 157 A (huile de soja et huile de ricin dans les proportions de la préparation).

Il n'est apparu en aucun cas de papule bleue provenant de la diffusion du colorant.

CONCLUSIONS.

Dans les conditions du test de tolérance locale de HAZARD et QUEVAUVILLER, le concentrat de C 157 A et son solvant huileux n'ont donné chez le lapin, aucun signe d'intolérance.

IX - ACTION DU C 157 A SUR L'ACTIVITE CILIAIRE (Tolérance locale et activité anesthésique de surface).

GENERALITES.

Bien que l'observation de l'activité ciliaire ait été mise au point - R. MADURO et L.G. CHEVANCE (19) pour l'étude de produits destinés à la thérapeutique O.R.L. et présente de l'intérêt surtout dans ce cas précis, nous avons pensé qu'il serait intéressant de vérifier en même temps la tolérance locale et le pouvoir anesthésique de surface du C 157 A sur un revêtement aussi particulièrement fragile que l'épithélium cilié trachéal.

TECHNIQUE.

1 - Principe.

Lorsque, à l'aide d'un microscope à ultropak, ou à éclairage supérieur, on étudie la face interne d'un fragment de trachée prélevée sur l'animal vivant (lapin ou rat), on distingue, à sa surface recouverte de mucus, une incessante agitation.

Celle-ci est faite de mouvements ondulatoires assez rapides, entraînant la formation de sortes de rides ou de vagues plus ou moins profondes. Elles tendent toutes à la formation d'un courant orienté, qui finit par entraîner toutes les petites particules ou les globules rouges spontanément présents à la surface, en un sens constant.

Grâce aux jeux de lumière réalisés par la combinaison de l'éclairage latéral et de la concavité du fragment, on arrive rapidement à repérer certains points où les cils sont directement visibles. Leurs battements très rapides, 400 à 500/600 par minute, sont constitués par deux phases : une phase rapide et une lente marquant le retour à la position d'équilibre.

L'étude de l'action d'une solution quelconque sur l'activité ciliaire s'effectue en instillant sous microscope une goutte de ladite solution sur le fragment en cours d'observation, lorsqu'on a acquis la certitude que l'activité ciliaire, à son niveau est stable et régulière.

2 - Protocole expérimental:

a) Choix des animaux.

Le Rat albinos adulte, pesant entre 200 et 250 g.

b) Choix du matériel.

Un microscope à éclairage supérieur - Une boîte de pétri avec coton imbibé de solution chlorurée sodique isotonique et conservée à 37° C.

Un matériel opératoire usuel.

c) Conditions expérimentales générales.

L'anesthésie générale de l'animal est obtenue par injection intrapéritonéale de 1,2 ml. de solution d'urethane à 20 %.

Les plans pré-trachéaux sont rapidement disséqués, en évitant les grosses veines pré-trachéales. La trachée ainsi mise à découvert est clampsée sous le larynx et au niveau du sternum, puis sectionnée au-delà des clampses, afin d'éviter toute souillure intra-trachéale.

Elle est ensuite découpée en fragments d'un demi-cm² environ, qui sont conservés avant utilisation sur un coton imbibé de solution physiologique contenu dans une boîte de Pétri placée à 37° C.

Chaque fragment est posé sur une lame et mis sous le microscope.

Lorsque l'on est assuré du parfait fonctionnement ciliaire, on instille au temps 0 une goutte du produit à tester sur le fragment trachéal. On peut alors suivre l'évolution de l'activité ciliaire aux temps 2, 5, 10, 15 minutes, et toutes les cinq minutes, jusqu'à arrêt complet des battements. Celui-ci survient d'autant plus vite que le produit est " toxique " pour la muqueuse.

d) Produits testés.

- C 157 A concentrat huileux.
- Ethoforme 4,8 %
- Novésine 0,40 % utilisée comme témoin de l'anesthésique.
- Huiles du concentrat.

RESULTATS.

Les résultats obtenus sont schématisés dans le tableau joint au dossier. Ils portent sur 8 rats et peuvent se résumer ainsi qu'il suit :

- 1 - Aucun des produits mis en contact avec l'épithélium trachéal n'a arrêté totalement le mouvement ciliaire avant 20 mn.
- 2 - La diminution d'activité que l'on note entre 5 et 10 minutes dans le cas de la Novésine 0,40 %, de l'Ethoforme 4,8 % et du C 157 A (concentrat), est due au pouvoir anesthésique local de ces trois produits.

- 3 - Les huiles seules ont donné un arrêt partiel des mouvements ciliaires, après un temps de contact plus prolongé : entre 20 et 25 minutes.
- 4 - Lors de l'arrêt total de l'activité ciliaire, nous n'avons, en aucun cas, noté l'apparition d'un exsudat blanchâtre, témoin d'une nécrose superficielle de la muqueuse.

CONCLUSIONS.

L'expérimentation du C 157 A sur l'épithélium trachéal de rat, en se basant sur le test d'activité ciliaire, a permis de montrer :

- 1 - Un pouvoir anesthésique local à peu près comparable à celui de la Novésine à 0,40 % puisque nous avons noté un arrêt partiel du mouvement ciliaire, 5 à 10 minutes après l'application.

Cette anesthésie paraît due à l'Ethoforme, puisque les huiles n'ont donné un ralentissement de l'activité ciliaire qu'après un temps de contact beaucoup plus long : 20 à 25 mn.

- 2 - Une bonne tolérance du produit par un revêtement d'une extrême fragilité, comme la muqueuse trachéale - aucun exsudat blanchâtre n'ayant révélé de nécrose superficielle de la muqueuse.
-

B - ETUDE PHARMACOLOGIQUE

L'étude pharmacologique du C 157 A a été réalisée en procédant à la recherche des effets thérapeutiques suivants :

- I - ACTIVITE ANESTHESIQUE LOCALE
 - de surface
 - d'infiltration
- II - ACTIVITE ANTIALGIQUE
- III - ACTIVITE SUR LA CICATRISATION DES PLAIES ET DES BRULURES
- IV - ACTIVITES ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE.

I - ACTIVITE ANESTHESIQUE DU C 157 A

Anesthésie locale de surface.

GENERALITES.

Le C 157 A comprenant un anesthésique local de surface, l'éthoforme, nous avons recherché cette activité anesthésique locale sur la cornée de lapin, selon la technique de REGNIER (27, 28), en tenant compte des modifications apportées par LECHAT (17).

TECHNIQUE.

1 - Principe.

Une seule excitation de la cornée d'un oeil normal produite par un crin fin, fait apparaître une réaction de cet oeil sous la forme du réflexe oculo-palpébral. Un oeil anesthésié ne

réagit plus à cette excitation unique.

Le nombre d'excitations nécessaires pour provoquer le réflexe est proportionnel à la puissance d'action de l'anesthésique.

2 - Protocole expérimental.

a) Choix des animaux.

On utilise des lapins Fauves de Bourgogne. La veille de l'expérimentation, les lapins à tester sont amenés dans le local d'expérience. Les cils et tous les poils situés aux alentours de l'oeil sont soigneusement coupés au ciseau courbe pour éviter le réflexe de Wernicke. Pendant les douze heures précédant l'expérience, les animaux sont laissés sans nourriture.

Pour le test, le lapin est placé dans une boîte en bois, avec seulement la tête qui dépasse. L'éclairage de la pièce est constant (lumière du jour), et la température ambiante est notée. Les bruits sont à éviter au maximum pendant le test.

b) Choix du matériel.

Les stimulations sont effectuées à l'esthésiomètre de COCHET et BONNET. Après plusieurs mises au point, nous avons déterminé la longueur de son fil de nylon (diamètre 12/100 de mm.), à 10 mm., ce qui équivaut à une pression moyenne de 145 mg.

c) Conditions expérimentales générales.

Les essais sont pratiqués comme suit :

Au temps moins deux minutes, on vérifie qu'un seul attouchement du fil de nylon sur la cornée détermine l'occlusion immédiate des paupières.

Au temps 0 minute, la solution anesthésique choisie est instillée dans le cul-de-sac conjonctival, de façon à ce que ce dernier soit rempli. La solution est laissée exactement deux minutes au contact de la cornée. A la fin des deux minutes, la paupière inférieure est relâchée. L'anesthésique s'écoule et le pourtour de l'oeil est essuyé doucement avec un coton.

Au temps trois minutes, on effectue une première série d'excitations sur la cornée avec l'esthésiomètre. Elle consiste à toucher la cornée toujours au même endroit, à raison d'environ 4 excitations par seconde, le fil de nylon restant parfaitement perpendiculaire au plan cornéen. (Le nombre d'excitations nécessaires pour obtenir l'occlusion palpébrale est noté).

Au temps 6 minutes, puis 10 minutes, renouveler le test.

Procéder de même toutes les 5 minutes et renouveler cette série d'excitations jusqu'à ce qu'une seule déclenche le réflexe cornéen (indice de reprise de la sensibilité cornéenne).

REMARQUE.

Nous n'effectuons à chaque série que 200 excitations consécutives même si le réflexe n'est pas obtenu, ceci afin de laisser l'oeil se reposer. Nous notons alors : >200 - LECHAT (17).

d) Conditions expérimentales particulières.

Nous comparons :

Le C 157 A, sous forme de concentrat huileux, administré sur un oeil.

La solution d'éthoforme, administrée ensuite sur l'autre oeil.

Les recherches sont répétées après 8 jours de repos en essais croisés.

Ils sont en outre effectués avec deux concentrations différentes : concentrat non dilué et concentrat dilué au demi.

RESULTATS.

Les résultats sont présentés comme suit :

1 - Tableaux.

Sur un même tableau, et ceci pour chaque lapin, sont notés pour chaque oeil les nombres d'excitations nécessaires pour obtenir l'occlusion palpébrale aux différents temps après l'instillation. La lettre N représente le nombre total d'excitations nécessaires pour revenir à la sensibilité normale de l'oeil.

Un tableau individuel (lapin C7 - tableau 5) figure à titre d'exemple et les résultats sont consignés sur des tableaux récapitulatifs (tableaux 6 et 7).

2 - Graphiques.

Les courbes représentatives, nombres d'excitations en fonction du temps sont rapportées sur papier millimétré. Lorsque 200 excitations n'ont pas été suffisantes pour obtenir l'occlusion palpébrale lors d'une série de stimulations, les graphiques sont ouverts.

Nous relèverons les quelques points suivants :

a) Avec le C 157 A concentrat non dilué, la moyenne des résultats portant sur 7 lapins (lors d'essais croisés) est de 1027 excitations, alors que l'éthoforme seul, utilisé à la même concentration, donne 976 excitations nécessaires pour revenir, dans les conditions expérimentales précitées, à la sensibilité normale de l'oeil.

b) Avec le C 157 A concentrat dilué au demi, la moyenne des résultats portant sur 7 lapins (lors d'essais croisés) est de 401 excitations, alors que l'éthoforme seul, utilisé à la même concentration, donne 471 excitations nécessaires pour revenir à la sensibilité normale de l'oeil.

Le C 157 A présente donc une puissante activité anesthésique de surface qui est du même ordre de grandeur que celle développée dans des conditions identiques, sur les mêmes animaux, par l'éthoforme qu'il contient, utilisé à la même concentration et elle est proportionnelle à cette concentration.

CONCLUSIONS.

L'activité anesthésique locale de surface du C 157 A a été recherchée par la méthode de REGNIER sur 14 lapins, lors d'essais croisés, pour deux concentrations différentes et comparativement à celle développée dans des conditions identiques par l'éthoforme seul, aux mêmes concentrations.

Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales précitées, permettent de conclure au maintien de l'activité anesthésique locale de surface de l'éthoforme dans la préparation du C 157 A ; cette activité est proportionnelle à la concentration et se révèle puissante pour le C 157 A non dilué.

TABLEAU 5 -

TEST DE REGNIER

LAPIN N° C7

Tableau Individuel.

Poids : 2,700 kg - 2,800 kg.

Race : Fauve de Bourgogne.

O. G.				O. D.			
Ethoforme 4,8 %		C 157 A Concentrat		Ethoforme 4,8 %		C 157 A Concentrat	
Temps en minute	Nombre d'exci- tations	Temps en minutes	Nombre d'exci- tations	Temps en minutes	Nombre d'exci- tations	Temps en minutes	Nombre d'exci- tations
0	1	0	1	0	1	0	1
3	> 200	3	> 200	3	> 200	3	> 200
6	> 200	6	> 200	6	> 200	6	> 200
10	> 200	10	> 200	10	> 200	10	> 200
15	190	15	> 200	15	> 200	15	> 200
20	170	20	> 200	20	57	20	> 200
25	50	25	> 200	25	1	25	157
30	1	30	57			30	130
		35	29			35	57
		40	3			40	5
		45	1			45	3
						50	4
						55	1
Totaux	> 1112		> 1291		> 859		> 1358

TABLEAU 6 -

TEST DE REGNIER
TABLEAU RECAPITULATIF - 1ère SERIE

		NOMBRE D'EXCITATIONS = N	
N° DES LAPINS		Ethoforme 4,8%	C 157 A Concentrat
LAPIN C7	OG	N > 1112	N > 1291
	OD	N > 859	N > 1358
LAPIN C3	OG	N > 637	N > 1220
	OD	N > 847	N > 1407
LAPIN D5	OG	N > 992	N > 701
	OD	N > 1026	N > 1418
LAPIN F5	OG	N > 1293	N > 1178
	OD	N > 1470	N > 940
LAPIN D9	OG	N > 1163	N > 938
	OD	N > 950	N > 816
LAPIN AO	OG	N > 1103	N > 728
	OD	N > 910	N > 1008
LAPIN D7	OG	N > 942	N > 870
	OD	N > 369	N > 516
Moyennes Approximatives		$\frac{13.673}{14} = 976$	$\frac{14.389}{14} = 1027$

TABLEAU 7 -

TEST DE REGNIER
TABLEAU RECAPITULATIF - 2ème SERIE

		NOMBRE D'EXCITATIONS = N	
N° DES LAPINS		Ethoforme 2,4%	C 157 A Concentrat dilué au demi
LAPIN C7	OG OD	N > 621 N > 563	N > 259 N > 459
LAPIN C3	OG OD	N > 305 N > 307	N > 303 N > 104
LAPIN D5	OG OD	N > 337 N > 330	N > 495 N > 673
LAPIN F5	OG OD	N > 576 N > 556	N > 566 N > 418
LAPIN D9	OG OD	N > 615 N > 550	N > 513 N > 422
LAPIN AO	OG OD	N > 709 N > 447	N > 443 N > 433
LAPIN D7	OG OD	N > 370 N > 311	N > 263 N > 264
Moyennes Approximatives		$\frac{6.597}{14} = 471$	$\frac{5.615}{14} = 401$

Anesthésie locale d'infiltration.

GENERALITES.

Bien que le C 157 A, tant par sa formule que par sa présentation, semble correspondre avant tout à un puissant anesthésique de surface, il nous a paru intéressant de rechercher son activité anesthésique d'infiltration, selon la méthode inspirée par MOUKHTAR (22) et codifiée par BULBRING et WAJDA (8).

TECHNIQUE.

1 - Principe.

Une seule stimulation de la peau du dos du cobaye produite par un vaccinostyle, fait apparaître un frisson peaucier localisé. Une aire cutanée anesthésiée ne réagit plus à cette excitation unique mais on constate que le réflexe peaucier peut se produire à la suite de la répétition d'un nombre déterminé de stimulations.

Pour des anesthésies plus profondes, le nombre des excitations nécessaires pour obtenir une réponse est tel que la peau du dos de l'animal peut être considérée comme inexcitable. On considère, en pratique, que la non apparition d'un réflexe peaucier à la suite de six excitations est le signe d'une anesthésie complète.

2 - Protocole expérimental.

a) Choix des animaux.

Le cobaye adulte, mâle de préférence, est épilé la veille de l'expérience, dans la région dorsale.

b) Choix du matériel.

Les stimulations sont effectuées à l'aide d'un vaccinostyle, dont la pointe n'est pas trop acérée, pour ne pas causer une blessure.

c) Conditions expérimentales générales.

On vérifie que la zone qui va recevoir l'anesthésique répond par un réflexe cutané à un stimulus unique.

L'injection est faite dans le derme, à la température du laboratoire, à la dose de 0,2 ml. de solution d'anesthésique. La surface injectée est entourée d'un cercle d'encre, la recherche de l'anesthésie débute 5 minutes après des stimulations répétées toutes les trois secondes, dont on compte le nombre. Le nombre de stimulations ne donnant pas de réponse est compté jusqu'au maximum de six. On continue l'exploration toutes les cinq minutes durant 30 minutes.

d) Particularités expérimentales.

Alors que la plupart du temps l'expérimentateur compare des anesthésiques locaux sous forme de dérivés hydrosolubles en solution dans un soluté chloruré sodique isotonique à 9 p. 1000, ici nous opérons sur une base, l'éthoforme, en solution huileuse.

Nous avons recherché l'activité anesthésique comparée :

- du concentrat huileux de C 157 A, après dilution au demi dans le solvant huileux de la préparation (pour être dans la zone d'anesthésie de la technique utilisée). Ce solvant nous a été donné comme comprenant dans le C 157 A (concentrat) 50 % d'huile de ricin et 40,1 % d'huile de soja.

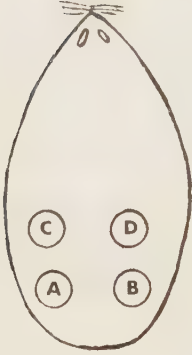
- d'une solution d'éthoforme à 2,4 % dans le solvant huileux précédent. Cette solution présente, compte tenu du surdosage en éthoforme réalisé dans la préparation C 157 A, une concentration en anesthésique identique à celle du concentrat de C 157 A dilué au demi.

- du solvant huileux seul.

Nous avons recherché en outre, par observation minutieuse des zones injectées, la tolérance locale des solutions.

3 - Exemple d'une expérience.

Cobaye n° 8 -



- En A et en D : solution huileuse d'éthoforme à 2,4 % -
0,2 ml. par bouton intra-dermique.
- En B et en C : Concentrat de C 157 A dilué au demi -
0,2 ml. par bouton intradermique.

Les essais sont croisés pour éliminer la sensibilité particulière de chaque région.

TABEAU 8 -

Nombre de stimuli demeurés sans réflexe peaucier				
Temps (mn.)	Ethoforme 2,4 %	C 157 A au demi	C 157 A au demi	Ethoforme 2,4 %
0	0	0	0	0
5	6	6	6	6
10	6	6	6	6
15	5	1	1	0
20	1	0	0	0
25	0	0	0	0
30	0	0	0	0
Total du nombre de stimuli	18	13	13	12

$$\text{Moyenne de A et D : } \frac{A + D}{2} = \frac{18 + 12}{2} = 15$$

$$\text{Moyenne de B et C : } \frac{B + C}{2} = \frac{13 + 13}{2} = 13$$

RESULTATS.

1 - Comparaison des solutions huileuses de C 157 A et d'éthoforme.

Les résultats, moyennes des résultats individuels obtenus comme cela a été explicité ci-dessus, sont condensés dans le tableau 9.

Les moyennes sont accompagnées de l'écart standard σ

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (M - M_x)^2}{n - 1}}$$

M : Moyenne générale
 Mx : Moyenne individuelle
 n : Nombre d'animaux.

Nous constatons à l'examen de ce tableau :

- Une très large dispersion des résultats qui paraît due aux variations dans la sensibilité individuelle des animaux, aux variations des réponses des 4 boutons, intradermiques pour un même animal.

Cela peut s'expliquer par le fait que cette technique est habituellement pratiquée sur des solutions aqueuses d'anesthésiques hydrosolubles. Ici la diffusion de la solution huileuse après bouton intradermique est plus inconstante.

- Une activité moyenne très comparable pour ce qui est de l'anesthésie d'infiltration obtenue avec le C 157 A et l'éthoforme à la même concentration ; cette activité est cependant modeste en valeur absolue si on se souvient que, dans des conditions identiques, elle est obtenue avec des solutions aqueuses de chlorhydrate de procaine à 0,25 ou 0,50 %.

TABLEAU 9 -

Moyenne des Totaux des Nombres de Stimuli demeurés sans Réflexe Peaucier = Mx			
Cobaye		Ethoforme à 2,4 p. 100	C 157 A concentrat au demi
N°	Poids Gr.		
1	320	5	24
2	380	11	9,5
3	400	21,5	14
4	360	24	20
5	350	12	6
6	380	13,5	20,5
7	400	8	11,5
8	310	15	13
9	350	16,5	22,5
10	360	11	8,5
12	370	7	9
13	350	8,5	12
14	380	17	5
15	340	14,5	11,5
16	330	17,5	13
17	350	18,5	32
18	380	20	25,5
19	400	17	21,5
20	400	13	18,5
Moyenne Générale: M		14	15
Ecart Standard : σ		5	7

2 - Comparaison du concentrat huileux de C 157 A et de la solution huileuse seule (solvant).

Les résultats moyens figurent au tableau récapitulatif ci-après. Ils ont été effectués sur des animaux particulièrement réactifs chez lesquels le solvant s'est révélé pratiquement dépourvu d'action anesthésique, alors que le C 157 A présentait une action anesthésique très marquée et très homogène, comparativement aux animaux des lots des essais précédents.

Cette action est identique à celle obtenue antérieurement avec les animaux chez lesquels les réponses des boutons intradermiques étaient homogènes par suite d'une diffusion identique.

TABLEAU 10 -

Moyenne des totaux des nombres de stimuli demeurés sans réflexe peaucier = Mx			
Cobaye		Solvant huileux seul	C 157 A Concentrat au 1/2
N°	Poids Gr.		
21	330	0	25,5
22	300	5	35
23	350	0	23
24	380	0	24,5
25	360	9,5	27,5
26	380	1,5	24
Moyenne générale : M		2,6	26,6
Ecart standard : σ		3,8	4,4

CONCLUSIONS.

La méthode du bouton intra-dermique sur le dos de cobaye permet de montrer, chez cet animal, dans les conditions décrites, une activité anesthésique d'infiltration présentée par le C 157 A.

Cette activité anesthésique d'infiltration, quoique modérée est identique à celle présentée par l'éthoforme expérimenté à la même concentration et dépend de celui-ci puisque le solvant huileux seul est sans action, montrant ainsi un maintien de l'activité de l'éthoforme dans la préparation utilisée.

Le C 157 A, puissant anesthésique de surface, présente donc également une activité anesthésique d'infiltration non négligeable.

II - ACTIVITE ANTI-ALGIQUE DU C 157 A.

GENERALITES.

Dans le but de rechercher l'activité anti-algique du C 157 A, nous avons déterminé l'activité de la préparation sur la queue de souris lésée, en adaptant ainsi la technique de la mise en évidence de l'activité analgésique selon d'AMOUR et SMITH (10).

TECHNIQUE.

1 - Principe.

Un rayon calorifique d'intensité constante est dirigé sur la queue de la souris jusqu'à ce que la sensation de la brûlure se manifeste par une tentative de retrait de l'organe. La durée d'application du rayon calorifique, sans réaction sensible, se trouve accrue en présence d'analgésique.

2 - Protocole expérimental.

a) Choix des animaux.

Choisir des souris adultes de poids voisin de 20 g.

Eliminer celles qui ne présentent pas une sensibilité convenable (voir ci-dessous).

b) Choix du matériel.

L'appareil de test analgésique utilisé est celui des Ets. Braun (Melsungen - Allemagne). Il comprend :

une source calorifique, lampe électrique et son réflecteur,
un système de lentilles,

un chariot mobile portant une série de 10 supports sur lesquels sont placés des dispositifs en plexiglas renfermant les souris,

un bouton de déclenchement, qui agit à la fois sur un chronomètre au 1/100 de seconde et sur un diaphragme qui permet le passage du faisceau lumineux.

c) Conditions expérimentales générales.

Déterminer le temps moyen au bout duquel la souris non traitée réagit à la douleur. Répéter deux fois l'essai. Eliminer les animaux peu réactifs. L'écart entre deux mesures ne doit pas dépasser deux secondes pour un même animal.

d) Particularités expérimentales.

Les queues des souris sont alors lésées à l'aide d'un scalpel par raclage superficiel depuis 0,5 cm. à partir de la base de la queue, sur une longueur fixe d'environ 5 cm., jusqu'à 1 cm. environ de l'extrémité. Ceci a été nécessité par le fait :

que la peau de la queue de souris est épaisse et peu perméable à une substance huileuse (les tests effectués sur peau normale ayant donné des résultats peu significatifs),

que le C 157 A devra être appliqué sur des plaies et que nous nous rapprochons alors des conditions d'utilisation .

La substance à tester est donc administrée soit :

- sous forme de concentrat huileux de C 157 A. La queue lésée est enduite de substance, puis massée légèrement durant une minute,
- sous forme de pulvérisation avec le nébuliseur C 157 A. La pulvérisation est effectuée à une distance de 25 cm. de la queue.

Les animaux sont testés 10, 20, 30, 60, 90, 150, et 180 mn. après l'application de C 157 A. Nous n'avons pas prolongé l'épreuve au-delà de cet intervalle pour ne pas brûler les queues de souris par les stimuli calorifiques réitérés.

Pour la même raison, lorsque l'animal n'a pas réagi en 12 secondes, nous avons arrêté l'exposition à la source calorifique. Nous notons >12 secondes et considérons l'analgésie comme totale. Les moyennes de ces résultats seraient donc en réalité plus élevées, elles sont précédées du signe $>$.

RESULTATS.

1 - Action du C 157 A sous forme de concentrat huileux.

Les résultats portent sur trois séries groupant 30 animaux (essais et témoins étant examinés simultanément).

Nous rappellerons les moyennes dans le tableau ci-après (tableau 11).

Dans les conditions expérimentales du test utilisé, l'analgésie est nette à la dixième minute, suivant l'application du C 157 A et demeure marquée jusqu'à la cent cinquantième minute.

TABLEAU 11.-

Temps en mn.		- 20	- 10	+ 10	+ 20	+ 30	+ 60	+ 90	+ 150	+ 180
Seuil en secondes et 1/100ème de secondes	Témoins (15 anim.)	7 $\frac{95}{100}$	5 $\frac{33}{100}$	6 $\frac{60}{100}$	6 $\frac{67}{100}$	6 $\frac{05}{100}$	5 $\frac{75}{100}$	6 $\frac{92}{100}$	4 $\frac{74}{100}$	5 $\frac{100}{100}$
	Traités au C 157 A (15 anim.)	8 $\frac{36}{100}$	5 $\frac{54}{100}$	$> 8 \frac{02}{100}$	$> 9 \frac{29}{100}$	$> 10 \frac{26}{100}$	$> 10 \frac{52}{100}$	$> 9 \frac{61}{100}$	$> 7 \frac{53}{100}$	> 5

2 - Action du C 157 A sous forme de pulvérisation.

a) Application suivie de massage.

Les essais groupent 20 animaux répartis en deux séries (essais et témoins étant examinés simultanément).

Les moyennes sont rappelées ci-après (tableau 12).

L'action anti-algique est analogue à celle observée précédemment. Il est à noter ici que certains témoins ont eu la queue lésée par le rayon calorifique entre 90 et 180 minutes, ce qui explique les valeurs élevées ainsi obtenues.

TABLEAU 12 -

Temps en mn.		- 20	- 10	+ 10	+ 20	+ 30	+ 60	+ 90	+ 150	+ 180
Seuil en secondes et 1/100ème de secondes	Témoins (10 anim.)	6 $\frac{56}{100}$	4 $\frac{92}{100}$	5 $\frac{11}{100}$	4 $\frac{59}{100}$	5 $\frac{14}{100}$	6 $\frac{24}{100}$	$\geq$ 9 $\frac{44}{100}$	$\geq$ 9 $\frac{96}{100}$	$\geq$ 9 $\frac{86}{100}$
	Traités au C 157 A (10 anim.)	6 $\frac{77}{100}$	4 $\frac{96}{100}$	$>$ 8 $\frac{88}{100}$	$>$ 9 $\frac{42}{100}$	$>$ 8 $\frac{37}{100}$	$>$ 8 $\frac{09}{100}$	$>$ 8 $\frac{13}{100}$	$>$ 10 $\frac{50}{100}$	$>$ 9 $\frac{07}{100}$

b) Application non suivie de massage.

Les essais groupent 20 animaux répartis en deux séries comme ci-dessus.

Les moyennes sont rappelées dans le tableau ci-après (tableau 13).

L'action anti-algique du C 157 A est particulièrement nette et durable.

TABLEAU 13 -

Temps en mn.		- 20	- 10	+ 10	+ 20	+ 30	+ 60	+ 90	+ 150	+ 180
Seuil en secondes et 1/100ème de secondes	Témoins (10 anim.)	6 $\frac{07}{100}$	5 $\frac{18}{100}$	6 $\frac{14}{100}$	5 $\frac{19}{100}$	5 $\frac{12}{100}$	$\geq 5 \frac{89}{100}$	5 $\frac{39}{100}$	$\geq 8 \frac{03}{100}$	≥ 8
	Traités au C 157 A (10 anim.)	5 $\frac{86}{100}$	4 $\frac{73}{100}$	$> 8 \frac{86}{100}$	$> 8 \frac{74}{100}$	$> 9 \frac{34}{100}$	$> 9 \frac{57}{100}$	$> 11 \frac{17}{100}$	$> 11 \frac{56}{100}$	> 12

CONCLUSIONS.

A l'aide de la technique de d'AMOUR et SMITH modifiée, il a été mis en évidence sur la queue de souris dont la peau était préalablement lésée, une puissante activité anti-algique du C 157 A.

Cette activité, nette dès la 10ème minute suivant l'application, s'est révélée durable durant près de 3 heures.

Elle a été obtenue tant avec le concentrat huileux de C 157 A qu'avec les pulvérisations effectuées avec le nébuliseur de C 157 A, avec ou sans massage de la zone d'application.

III - ACTION DU C 157 A SUR LA CICATRISATION DES PLAIES ET DES BRULURES.

Ainsi que le rapporte MARCY (21) " la cicatrisation est un processus qui ne peut, autant qu'on le sache, être matériellement accéléré, mais qui, par contre, peut être retardé par de nombreux facteurs ".

Nous avons donc recherché si le C 157 A modifiait la vitesse de cicatrisation des plaies et des brûlures.

CICATRISATION DES PLAIES.

GENERALITES.

Pour étudier l'action du C 157 A sur la cicatrisation des plaies, nous avons fait appel à la méthode de HEITE (15) en suivant le protocole décrit par QUEVAUVILLER et coll. (26).

La cicatrisation physiologique chez l'homme n'est pas fondamentalement différente de celle des animaux (chien, lapin, cobaye, rat), bien que la peau soit différente ainsi qu'il ressort de l'étude de MARCY (21) et les résultats de l'expérimentation animale sont, pour cet auteur, extrapolables à l'homme.

TECHNIQUE.

1 - Choix des animaux.

Nous opérons sur des cobayes adultes, de poids compris entre 250 et 350 gr., des deux sexes, recevant une alimentation équilibrée (Provende extra-labo et eau fraîche à volonté).

2 - Protocole général.

Les plaies sont effectuées à l'aide de la " poinçonneuse à main qu'utilisent les cordonniers pour faire des oeilletons dans le cuir. La peau du dos de l'animal, tondue, est pincée dans l'axe de la colonne vertébrale et l'on découpe d'un seul coup deux disques de 5 mm. de diamètre ".

La peau présente ainsi deux plaies symétriques par rapport à la colonne vertébrale, de dimensions semblables.

Pour les séries des animaux traités, la plaie gauche étant protégée par un cache, la plaie droite reçoit chaque jour une pulvérisation. L'évolution de la cicatrisation est suivie en mesurant le diamètre de chaque plaie perpendiculairement à la colonne vertébrale de l'animal. Une série de témoins non traités permet de vérifier l'avolution normale et parallèle des plaies droite et gauche laissées à l'air.

3 - Protocole particulier.

Il résulte des observations de QUEVAUVILLER et coll.

Il y a quelques années, ces auteurs auraient étudié la tolérance par la peau du rat, des hydrocarbures chlorofluorés (C.F.C.) 11, 12, et 11 + 12. Ils avaient conclu que ces produits, pulvérisés ou badigeonnés sur la peau de jeunes animaux, étaient bien tolérés (25).

Plus récemment, ces auteurs écrivaient (24, 26) " si les C.F.C. peuvent être employés comme pulseurs dans l'application de substances diverses sur des revêtements sains, on doit leur faire appel avec circonspection toutes les fois qu'il s'agit de tissus malades, blessés ou brûlés ".

Il faut dire que ces auteurs effectuaient des pulvérisations de 10 secondes, à 10 cm. de distance, une ou deux fois par jour, 5 jours par semaine, jusqu'à 6 semaines.

Nous avons donc utilisé 4 lots de 6 cobayes chacun :

Lot I - Témoins - Plaie droite et plaie gauche non traitées.

Lot 2 - Essai - Une plaie témoin, une plaie traitée par pulvérisations à 10 cm de distance quotidiennement durant 3 secondes.

Lot 3 - Essai - Une plaie témoin, une plaie traitée par pulvérisations à 20 cm. de distance, quotidiennement durant 3 secondes.

Lot 4 - Essai - Une plaie témoin, une plaie traitée par pulvérisations à 25 cm. de distance, quotidiennement durant 3 secondes.

N.B. - Les pulvérisations ont été poursuivies durant 21 jours chez quelques animaux traités, ceci afin de confirmer la tolérance du C 157 A.

Une étude histologique de la peau prélevée au niveau de la zone d'expérience a été effectuée chez quelques animaux.

RESULTATS.

Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales précitées figurent dans le tableau 14 où sont représentés les moyennes de chaque série, relatives à 24 cobayes.

Nous noterons les résultats particulièrement favorables obtenus avec le lot 3 (pulvérisations à une distance de 20 cm.) où la fin de cicatrisation est obtenue le 8ème jour au lieu du 11ème jour.

Nous pensons expliquer les résultats moins nets, mais favorables, obtenus avec le lot 4 par la dispersion plus forte du C 157 A, vu la distance et la moindre quantité atteignant la plaie à traiter.

Quant aux résultats encore moins probants du lot 2, mais cependant toujours favorables, ils peuvent peut-être s'expliquer en faisant appel aux travaux de QUEVAUVILLER et coll.

Il faut noter également que les plaies traitées avec le C 157 A présentaient un aspect bien plus favorable que les plaies témoins en ce qui concerne l'épithélium en particulier.

ETUDE HISTOLOGIQUE.

1 - Technique.

Après traitement, lorsque les plaies sont considérées comme étant totalement cicatrisées, deux animaux de chaque lot sont anesthésiés et il est prélevé sur chacun d'eux un fragment de peau dans la zone d'expérience.

Fixés au Bouin, déshydratés et inclus en paraffine suivant la méthode classique, ces fragments sont coupés à 6 μ et colorés par les méthodes de MALBRY (trichrome) et de RAMON Y CAJAL (trichrome).

2 - Résultats.

a) Coupes des animaux témoins.

Disparition totale de l'épiderme remplacé par une croûte épaisse et sans texture histologique.

	Avant traite- ment	1er J.	2ème J.	3ème J.	4ème J.	5ème J.	6ème J.	7ème J.	8ème J.	9ème J.	10ème J.	11ème J.
Lot I Témoins 6 animaux	Côté gauche	5	5,1	5,1	5,25	5	4,6	4	3	2,75	2	0,6
	Côté droit	5,3	5,4	5,4	5,50	5	4,3	4	3	2	1,83	0
	Diffé- rence	0,3	0,3	0,3	0,25	0	0,3	0	0	0,75	0,17	0,6
Lot II pulv. 10 cm. 6 animaux	Gauche témoin	5	5	5	5,2	5	5	4,6	3,5	3	2,3	0,6
	droit traité	4,9	5	5	5	5	4,6	3,2	2,6	1,4	0,7	0
	Diffé- rence	+ 0,1	0	0	+ 0,2	0	+ 0,4	+ 1,4	+ 0,9	+ 1,6	+ 1,6	+ 0,6
Lot III pulv. 20 cm. 6 animaux	Gauche témoin	5	5,3	5	5,5	5	4,5	4	2,4	2	1,5	1,1
	droit traité	6	6,3	6,5	6	5,3	4	3,5	0,6	0	0	0
	Diffé- rence	- 1	- 1	- 1,5	- 0,5	- 0,3	+ 0,5	+ 0,5	+ 1,8	+ 2	+ 1,5	+ 1,1
Lot IV pulv. 25 cm. 6 animaux	Gauche témoin	4,7	5	5	5	5	4,7	4	3	2	1	0,3
	droit traité	5	5,3	5	5,3	5	4,3	3,5	2	1,7	0,8	0
	Diffé- rence	- 0,3	- 0,3	0	- 0,3	0	+ 0,4	+ 0,5	+ 1	+ 0,3	+ 0,2	+ 0,3

Dissociation importante du derme : les fibres conjonctives ont complètement disparu à l'endroit de la plaie. Par contre, un envahissement leucocytaire très important montre l'infection persistante.

b) Coupes des animaux traités.

L'épiderme est entièrement reformé et la couche de Malpighi est continue.

Dans le derme, les fibres conjonctives se reforment à de nombreux endroits. On note des ébauches de bourgeonnement de poils partant de l'épiderme. Les cellules conjonctives du chorion sont particulièrement nombreuses.

3 - Conclusions.

Les coupes des animaux témoins révèlent une peau infectée et dont les éléments sont détruits très profondément.

Les coupes des animaux traités montrent une peau en régénération très active qui va très rapidement vers un aspect normal sans cependant l'avoir encore atteint.

CONCLUSIONS.

L'action du C 157 A a été recherchée sur la cicatrisation des plaies en s'inspirant des travaux de HEITE, de QUEVAUVILLER et de MARCY.

Dans les conditions expérimentales précitées, il s'est avéré que le C 157 A n'inhibe pas mais au contraire favorise la vitesse de cicatrisation des plaies réalisées sur le cobaye avec un optimum pour des pulvérisations effectuées à une distance de 20 cm. environ.

CICATRISATION DES BRULURES.

GENERALITES.

Pour examiner l'action du C 157 A dans la cicatrisation des brûlures, nous nous sommes inspirés des travaux de LECOMTE DU NOUY (18) et QUEVAUVILLER (26).

TECHNIQUE.

1 - Choix des animaux:

Nous opérons sur des rats blancs " Wistar ", de poids compris entre 170 et 220 g., des deux sexes, recevant une alimentation équilibrée. Les animaux sont épilés sur la région dorsale la veille de l'expérience.

2 - Protocole général.

Les brûlures sont effectuées à l'aide d'un cylindre métallique de 6 mm. de diamètre, dont l'extrémité est portée au rouge puis laissée 5 secondes à la température de la pièce et appliquée sur la peau de l'animal de façon à causer une brûlure correspondant à la surface circulaire de la base du cylindre.

Il est réalisé 4 brûlures symétriques deux à deux par rapport à la colonne vertébrale.

Pour les séries des animaux traités, les brûlures de gauche étant protégées par un cache, les brûlures de droite reçoivent chaque jour une pulvérisation.

L'évolution de la cicatrisation est suivie en décalquant la zone de la plaie sur un papier millimétré transparent.

Une série de témoins non traités permet de vérifier l'évolution normale et parallèle des brûlures droites et gauches laissées à l'air.

3 - Protocole particulier.

Il est calqué sur celui de la cicatrisation des plaies décrit plus haut.

Nous avons utilisé 4 lots de 8 rats chacun :

Lot 1 : Témoins.

Lot 2 : Essai - Deux brûlures témoins, deux brûlures traitées par pulvérisations à 10 cm. de distance quotidiennement durant 3 secondes.

Lot 3 : Essai identique avec pulvérisations à 20 cm. de distance.

Lot 4 : Essai identique avec pulvérisations à 25 cm. de distance.

N.B. - Les pulvérisations ont été poursuivies sur quelques animaux durant 21 jours afin de confirmer la tolérance du C 157 A

RESULTATS.

Nous pouvons constater que, vu la dispersion normale des résultats chez les témoins (lot 1) les lots 3 et 4 donnent des chiffres très voisins pour les côtés témoins et les côtés traités.

Enfin, le lot 2 présente une cicatrisation plus rapide du côté traité que du côté témoin.

Nous pouvons donc conclure que les applications de C 157 A n'ont pas d'effet défavorable sur la vitesse de cicatrisation des brûlures.

Les quelques clichés effectués ont montré, du point de vue à la fois qualitatif et quantitatif, l'effet bénéfique du C 157 A sur la cicatrisation des brûlures dans un cas particulièrement favorable.

CONCLUSIONS.

Dans les conditions de notre expérimentation, le C 157 A n'a pas présenté d'effet défavorable sur la vitesse de cicatrisation des brûlures et, chez certains animaux d'expérience, les résultats positifs sont particulièrement probants.

IV - ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ACTIVITE ANTIFONGIQUE DU C 157 A.

La recherche des activités antibactérienne et antifongique du C 157 A a été effectuée sous la direction de Monsieur le Professeur R. CLUZEL.

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DU C 157 A.

GENERALITES.

Nous avons étudié l'activité bactériostatique des différents antiseptiques présents dans la formule du C 157 A.

Le pouvoir bactériostatique a été recherché pour chacun des produits considérés isolément (parahydroxybenzoate de méthyle, chlorure de benzethonium, benzoate de 8-hydroxyquinoléine) pour leur mélange extemporané et, enfin, pour le C 157 A, sous sa forme de solution huileuse.

TECHNIQUE.

La technique utilisée a été la suivante : pour chaque produit, on prépare 8 séries de 11 tubes chacune : chaque série correspond à une bactérie donnée.

Dans chaque tube, sauf dans le premier de chaque série, on met 1 ml. d'eau distillée stérile.

Chaque série de 11 tubes est préparée selon le procédé classique de dilution sériées au demi en milieu liquide.

On prépare une solution aqueuse à 1000 mcg./ml. du produit à essayer.

Dans le premier et dans le deuxième tube, on met 1 ml. de cette solution.

Puis à l'aide d'une pipette de 1 ml. stérile, on mélange le contenu du 2ème tube, puis on prélève 1 ml. de ce tube qu'on reporte dans le 3ème tube et on procède de la même manière pour tous les tubes jusqu'au 11ème où le millilitre prélevé est rejeté.

Les 8 séries ayant été ainsi préparées, on ajoute dans chacun des tubes, 8 ml. de bouillon nutritif (formule Institut Pasteur de Paris, d'après H. CASSAGNE - Les milieux de culture).

La veille du jour de l'essai on repique en bouillon nutritif les souches suivantes :

- 1 - Staphylococcus Oxford
- 2 - Strepto D
- 3 - Klebsiella Pneumoniae
- 4 - Escherichia Coli
- 5 - Eberthella Typhosa
- 6 - Proteus Vulgaris
- 7 - Pyocyanique Aeruginosa Pseudomonas
- 8 - Bacillus Subtilis.

Le jour de l'essai, on dilue chaque culture microbienne de façon à avoir une concentration de 10^7 bactéries/ml.

Ensuite, pour chaque série de 11 tubes on ajoute 1 ml. de la suspension microbienne correspondante.

On agite chaque tube de façon à avoir une suspension homogène.

On met les tubes à 37° . On note au bout de 24 heures le premier tube de chaque série qui ne présente aucune culture.

Pour le mélange extemporané, on fait une solution à 1000 mcg./ml. en benzethonium, 20.000 mcg./ml. en parahydroxybenzoate de méthyle et 12.000 mcg./ml. en benzoate d'hydroxyquinoléine.

Pour cela, on fait une solution contenant 2 g. de parahydroxybenzoate de méthyle, 1,2 g. de benzoate de 8-hydroxyquinoléine et 0,100 g. de chlorure de benzethonium dans 100 ml. d'huile de ricin.

Puis on met 1 ml. de cette solution dans le premier tube et on dilue de 1/2 en 1/2 jusqu'au 11ème tube.

Pour le C 157 A, on met 1 ml. du concentrat huileux dans le premier tube et on dilue de 1/2 en 1/2 jusqu'au 11ème tube.

Pour le mélange extemporané et le C 157 A, les dilutions sériées sont effectuées à 37° pour assurer une dispersion convenable de la solution huileuse en milieux aqueux.

La méthode est ensuite identique à celle appliquée pour les produits séparés.

RESULTATS.

Les résultats sont consignés dans le tableau 15.

La concentration minima inhibitrice pour chaque produit est exprimée en microgramme par millilitre. En ce qui concerne le mélange extemporané et le C 157 A, le chiffre indiqué est celui de la concentration de chlorure de benzethonium, produit le plus antiseptique.

Les concentrations de benzoate de 8-hydroxyquinoléine et le parahydroxybenzoate de méthyle découlent de celle du chlorure de benzethonium dans le rapport des quantités indiquées par la formule centésimale.

CONCLUSION.

De l'examen des résultats, il ressort que l'activité bactériostatique du C 157 A est identique à celle du mélange extemporané des substances antiseptiques qu'il renferme et que cette activité est supérieure à celle de chacun des antiseptiques considérés isolément.

ACTIVITE ANTIFONGIQUE DU C 157 A.

GENERALITES.

Nous avons recherché l'activité antifongique des différents antiseptiques présents dans la formule du C 157 A.

Le pouvoir fongistatique a été recherché pour chacun des produits considérés isolément (parahydroxybenzoate de méthyle, chlorure de benzethonium, benzoate de 8-hydroxyquinoléine) pour un mélange extemporané et enfin pour le C 157 A sous sa forme de solution huileuse.

TECHNIQUE.

La méthode utilisée a été celle des dilutions sériées en gélose de Sabouraud.

TABLEAU 15 -

	Parahydroxy benzoate de méthyle	Chlorure de Benze- thonium	Benzoate de 8 hydroxy quinoléine	Mélange ex- temporane de chlorure de Benzethonium	C 157 A concentration de chlor. de Benzethonium
Staphylocoque (Oxford)	> 100	1, 56	6, 25	0, 095	0, 095
Streptocoque D	> 100	0, 78	3, 12	0, 095	0, 095
Klebsiella Pneumoniæ	> 100	12, 5	100	6, 25	6, 25
Escherichia Coli	> 100	50	100	6, 25	12, 5
Eberthella Typhosa	> 100	60	50	12, 50	12, 50
Proteus Vulgaris	> 100	25	50	25	25
Pseudomonas Aeruginosa	> 100	100	100	50	50
Bacillus Subtilis	> 100	1, 56	25	0, 78	1, 56

Concentration minima inhibitrice en mcg./ml.

Huit jours avant l'essai, on repique sur gélose de Sabouraud les souches suivantes :

- *Candida Albicans*
- *Epidermophyton Floccosum*
- *Microsporum canis*
- *Trichophyton Mentagrophytes*

On repique par une strie chaque souche sur chacune des boîtes de Pétri contenant de la gélose de Sabouraud, qui renferme :

- 1ère série : 3 boîtes de Pétri à 100, 10 et 1 mcg. de parahydroxybenzoate de méthyle par ml.
- 2ème série : 3 boîtes de Pétri à 100, 10 et 1 mcg. de chlorure de benzethonium par ml.
- 3ème série : 3 boîtes de Pétri à 100, 10 et 1 mcg. de benzoate de 8-hydroxyquinoléine par ml.
- 4ème série : 3 boîtes de Pétri renfermant des quantités du mélange extemporané correspondant à 100, 10 et 1 mcg. de benzoate de 8-hydroxyquinoléine par ml., produit le plus antifongique.
- 5ème série : 3 boîtes de Pétri renfermant des quantités de C 157 A correspondant à 100, 10 et 1 mcg. de benzoate de 8-hydroxyquinoléine par ml.

On prépare en outre, une boîte témoin de culture.

Les boîtes sont placées à l'étuve à 25° C pendant huit jours, période correspondant à une croissance normale des témoins.

On note alors les résultats au bout de cette période.

RESULTATS ET CONCLUSIONS.

Les résultats sont consignés dans le tableau 16.

De son examen il ressort que l'activité antifongique du C 157 A est identique à celle du mélange extemporané des substances antiseptiques qu'il renferme et que cette activité est supérieure ou égale à chacun des antiseptiques considérés isolément.

	Parahydroxy Benzoate de méthyle	Chlorure de Benze- thonium	Benzoate de 8 hydroxy quinoléine	Mélange ex- temporane de chlorure de Benzethonium	C 157 A concentration de chlorure de Benzetho.
Candida Albicans	> 100	100	> 100	100	100
Epidermophyton floccosum	> 100	> 100	100	100	100
Microsporum canis	> 100	> 100	100	100	100
Trichophyton Mentagrophytes	> 100	> 100	100	100	100

- TABLEAU 16 -

CONCLUSIONS GENERALES

L'examen du C 157 A nous permet de dégager les quelques conclusions suivantes :

- Du point de vue bibliographique

Il s'agit d'une association de produits bien définis utilisés déjà pour des propriétés connues : anesthésique local (éthoforme), antiprurigineux (menthol), ammonium quaternaire (chlorure de benzethonium), antiseptique, autres bactéricides et fongicides (benzoate de 8-hydroxyquinoléine et parahydroxybenzoate de méthyle), topiques adoucissants (huiles de ricin et de soja).

Cette préparation est présentée sous une forme moderne et originale.

- Du point de vue expérimental

L'étude toxicologique du C 157 A nous a conduits à rechercher la DL 50 par voie intrapéritonéale et par voie sous-cutanée chez la souris, la DL 50 par voie intrapéritonéale chez le rat, la toxicité à terme pendant 90 jours chez le lapin, la tolérance et l'action allergisante chez le cobaye albinos, la tolérance chez le rat et le cobaye lors de la cicatrisation des plaies et des brûlures, la tolérance sur l'oeil de lapin et sur l'oreille de lapin, l'action sur l'activité ciliaire.

Tous ces examens ont donné des résultats que nous avons explicités et qui paraissent très satisfaisants.

- L'étude pharmacologique du C 157 A nous a permis de mettre en évidence ses propriétés curatives : activité anesthésique locale (de surface et d'infiltration), activité anti-algique, activité sur la cicatrisation des plaies et des brûlures, activités antibactérienne et antifongique.

- En conclusion

Nous estimons que, dans les conditions expérimentales précisées ci-dessus, le C 157 A a donné des résultats très satisfaisants lors des essais de toxicité aiguë et chronique, en particulier une tolérance locale convenable.

Il a présenté en outre, une activité pharmacologique marquée.

Tous ces faits sont assez rationnels pour justifier l'essai de son utilisation en thérapeutique.

Vu,

Clermont-Ferrand, le 14 Juin 1968

Le Président du Jury

P. BASTIDE

Vu et Permis d'Imprimer

n° Ph 4/68

Clermont-Ferrand, le 15 Juin 1968

Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ADRIANI J. - Postgrad. Med., Louisiana State Univ. School.
Med. Août 1948 (communication personnelle).
- 2 - ADRIANI J. - Clin. Pharmacol. Ther., 1, n° 5, 647-673, 1960.
- 3 - ADRIANI J., ZEPERNICK R., ARENS J., AUTHEMENT E. -
Clin. Pharmacol. Ther., 5, n° 1, 49-62, 1964.
- 4 - BASTIDE P. - Rapport d'Etude toxicologique-pharmacologique
du C 157 A (communication personnelle).
- 5 - BEHRENS B. - Arch. Exp. Path. Pharmacol., 140, 237, 1929.
- 6 - BEHRENS B., KARBER G. : Arch. exp. Path. Pharmacol., 117,
379, 1935.
- 7 - BIJLSMA U.G. - Arch. int. Pharmacodyn., 34, 173, 1928.
- 8 - BULBRING E.B., WAJDA J. - J. Pharmacol. exp. Ther.,
85, 78, 1945.
- 9 - CAMPBELL D., ADRIANI J. - J. amer. Ass., 168, 873-877.
- 10 - D'AMOUR F.E., SMITH D.L. - J. Pharmacol. exp. Ther.,
72, 74, 1941.
- 11 - DORVAULT L. - La nouvelle Officine, 2, 143-600, 1955.
- 12 - DRAIZE J.M. WOODARD G., CLAVERY M.O. - J. Pharmacol.
exp. Ther., 82, 377, 1944.
- 13 - DUMAS J. - Les Animaux de Laboratoire - Flammarion p. 37,
1953.

- 14 - FINNEGAN J.K., LARSON P.S., BLACKWELL SMITH R., HAAG M.B., REID J.D., DREYFUSS M.L. - J. Pharmacol.exp. Ther., 109, 422-430.
- 15 - HEITE M.J. - Arzneimittel-Forsch., 5, 151, 1955.
- 16 - KARBER G. - Arch. exp. Path. Pharmacol., 162, 480, 1931.
- 17 - LECHAT P. - Thèse Doct. Med. Paris, 1956.
- 18 - LECOMTE DU NOUY P. - Recherches expérimentales et applications des méthodes de mesure à un phénomène biologique : la cicatrisation. Thèse Paris, 1917.
- 19 - MADURO R., CHAVANCE L.G. - La Clinique, 481, 589, 1954.
- 20 - MAMMERLUND E.R. - J. amer. Pharm. Ass. Pract. Pharm. Ed., 15, 226, 1954.
- 21 - MARCY R. - Prod. Pharm., 16, 53, 1961.
- 22 - MOUKHTAR A. - C.R. Soc. Biol. (Paris), 66, 187, 1909.
- 23 - MUNZIKER N. - Dermatologica, 122, 26, 1961.
- 24 - QUEVAUVILLER A., CHAIGNEAU M., SCHRENZEL M. - Ann. pharm. franç., 21, 727-734, 1963.
- 25 - QUEVAUVILLER A., GARCET S., GARET J. - Ann. pharm. franç., 17, 430, 1959.
- 26 - QUEVAUVILLER A., SCHRENZEL M., VU NGOC NUYEN - Thérapie, 19, 247-263, 1964.
- 27 - REGNIER J. - C.R. Acad. Sci., 177, 558, 1923.
- 28 - REGNIER J. - Thèse Doct. Med., Paris, 1929.
- 29 - SARKANY I. - Brit. J. Derm., 72, 345, 1960.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES	3
RECHERCHES EXPERIMENTALES	9
A - Etude Toxicologique.....	11
I - Détermination de la dose léthale 50 du C 157 A par voie intrapéritonéale sur la Souris	12
II - Détermination de la dose léthale 50 du C 157 A par voie sous-cutanée sur la Souris	17
III - Détermination de la dose léthale 50 du C 157 A par voie intrapéritonéale sur le Rat	18
IV - Toxicité à terme du C 157 A chez le Lapin (essai sur 90 jours)	20
V - Tolérance et action allergisante chez le Cobaye	25
VI - Tolérance lors de la cicatrisation des plaies et des brûlures	27
VII - Tolérance locale sur l'oeil de Lapin	27
VIII - Tolérance locale sur l'oreille de Lapin	28
IX - Action sur l'activité ciliaire	29

B - Etude pharmacologique.....	33
I - Activité anesthésique locale	33
- de surface	
- d'infiltration	
II - Activité anti-algique	46
III - Activité sur la cicatrisation des plaies et brûlures	50
IV - Activités antibactérienne et antifongique	57
CONCLUSIONS GENERALES	65
BIBLIOGRAPHIE	69
